临床研究

短时受精联合早期补救性ICSI与重复周期直接ICSI的临床数据分析

张曦倩,董云巧,周 娜,呙庆庆
广东省妇幼保健院生殖中心,广东 广州 510010

摘要:目的 回顾性分析本中心2013年1月~2015年1月的77例短时受精联合早期补救性ICSI的患者与该中心同期3295个直接ICSI的患者正常受精率、优胚率、妊娠率的对比。整理其中17例第一周期常规IVF受精失败联合早期ICSI补救未妊娠的患者与该患者重复周期直接ICSI的临床数据分析。**方法** 回顾性收集2013年1月~2015年1月期间在我中心接受IVF治疗3295个周期,其中受精完全失败77个周期,发生率为2.3%,839个成熟MII卵子行早期补救性ICSI,2PN率69%、优胚率89.2%、临床妊娠率48%。对其中短时受精联合早期ICSI补救移植胚胎未妊娠的17例患者与该患者重复周期直接行ICSI的临床结局进行分析:257个成熟MII卵子行ICSI,2PN率73%、优胚率68%、临床妊娠率55%。**结论** 短时受精失败后行补救性ICSI,可以减低取消周期数目,获得较高的受精率和优胚率,但是其临床妊娠率仍低于本中心同期ICSI的临床妊娠率;相同患者重复周期直接ICSI的2PN率、优胚率均较短时联合早期补救ICSI高,17例患者中3例获得临床妊娠。

关键词:短时受精;单精子卵细胞质内注射;早期补救性ICSI

在体外受精-胚胎移植(IVF-ET)的治疗过程中,有10%~20%的周期会发生受精完全失败的情况[1]。对近几年的文章进行系统荟萃分析,结果提示,与常规受精相比,短时受精可以提高临床妊娠率和胚胎种植率[2]。由于常规IVF受精失败后转行ICSI临床效果的报道存在差异[3-4],我们回顾性收集2013年1月~2015年1月期间在我中心接受IVF治疗,常规IVF受精失败后转行ICSI的患者77例(观察组),与同期使用男方射出精液直接行ICSI的3295例患者(对照组)的相关资料,比较两组患者的临床数据,探讨常规IVF失败联合早期ICSI补救的临床应用价值及该部分患者再次直接ICSI周期是否有助于妊娠结局的改善。

1 资料和方法

1.1 研究对象

2013年1月~2015年1月期间在我中心接受IVF治疗,常规IVF受精失败后转行ICSI的77周期(观察组),与同期使用男方射出精液直接行ICSI的3295个周期(对照组)作为研究对象。两组患者中的女方均为首次进行体外受精的患者。常规IVF失败的标准为:加入精子后6 h观察第2PB释放,所有成熟卵母细胞均无双PB判断为完全受精失败,即刻行补救性ICSI。直接ICSI的标准为:精液分析为严重少精、弱精、畸形精子症,排除染色体异常者。同时分析了其中17位患者在第1周期行常规IVF受精失败联合早期补救性ICSI后行胚胎移植未妊娠与该患者重复周期直接ICSI的临床相关数据进行分析。

1.2 研究方法

1.2.1 *控制超排卵* 所有患者均采用长方案或短方案进行超排卵,B超监测患者的卵泡生长情况,当患者主卵泡直径≥18 mm时,肌注10 000 U人绒毛膜促性腺激素(hCG),36 h后在B超指引下经引道取卵。

1.2.2 *精液准备* 男方禁欲3~5 d后以手淫方式取精,并参照WHO标准[5]对精液进行常规分析和形态检测,采用梯度离心和上游法收集精子,IVF时精子加入卵母细胞周围的精子浓度为$(5\sim10)\times10^5$/mL。对于对于严重少精症(1次射精的活精子浓度$<1\times10^6$/mL)或少弱畸精症(精子浓度$<20\times10^6$/mL,同时a+b级精子活动率<20%和(或)异常形态精子 >85%)或弱畸精症(精子浓度$>20\times10^6$/mL,形态正常精子<10%或a+b级精子<50%)或精液处理后a+b级运动活精浓度$<1\times10^6$/mL者行正常ICSI。

1.2.3 *加精后观察* 获卵后3 h按10 000精子/卵母细胞的比例加入精子,精卵共孵育3 h,加入精子后6 h观察第2PB释放,所有成熟卵母细胞均无双PB判断为完全受精失败,即刻行补救性ICSI。ICSI后18 h观察原核,42 h观察卵裂。

1.2.4 *胚胎选择和移植* 72 h后观察胚胎发育情况并选择优质胚胎,在B超引导下经阴道移植入子宫。

1.2.5 *妊娠确认* 胚胎移植后14 d检测血中hCG浓度,若阳性则诊断为生化妊娠;移植后30 d B超检查见宫内孕囊并有胎心管搏动诊断为临床妊娠。

1.3 统计学方法

计量资料采用t检验;计数资料采用χ^2检验;所有分

收稿日期:2015-06-16

作者简介:张曦倩,E-mail: zhangxiqian2015@163.com

析使用SPSS 16.0统计软件，以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者的基本情况比较

观察组患者平均年龄33.27±3.79岁，平均不孕年限5.75±2.21年；对照组患者平均年龄34.09±4.19岁，平均不孕年限6.04±3.63年。两组患者的男方年龄、女方年龄、不孕年限、Gn总量和取卵数之间无统计学差异（P>0.05，表1）。

表1 两组患者的基本情况比较

组别	周期(个)	男方年龄(岁)	女方年龄(岁)	不孕年限(年)	Gn总量(U)	取卵数(个)
观察组	77	33.27±3.79	31.24±3.06	5.75±2.21	2737±1271	11.05±4.34
对照组	3295	34.09±4.19	32.14±3.20	6.04±3.63	2685±1309	12.74±4.03
t值	-	1.275	1.805	0.563	0.254	1.059
P值	-	0.204	0.073	0.574	0.800	0.291

2.2 IVF失败后转行ICSI与本中心同期ICSI情况比较

观察组839个成熟MII卵子行早期补救性ICSI，2PN率69%、优胚率89.2%、临床妊娠率48%。同期3295个ICSI周期2PN率77%、优胚率73%、临床妊娠率55%（表2）。

表2 观察组转行ICSI前后情况比较

组别	周期(个)	取卵数(个)	成熟卵细胞数(个)	正常受精率(%)	Gn总量(U)
观察组	77	18.58±5.09	12.12±4.23	69.22±15.81	2543±1167
对照组	3295	18.05±4.34	13.05±5.17	77.96±17.80	2737±1271
t/χ^2值	-	0.535	1.060	14.31	0.856
P值	-	0.594	0.291	<0.001	0.394

2.3 两组助孕情况比较

观察组的卵裂率为(97.13±5.65)%，高于对照组(91.66±8.92)%，差异有统计学意义（P<0.05）；移植胚胎数为2.67±0.45个，高于对照组2.10±0.50个，差异有统计学意义（P<0.05）；两组间正常受精率、优质胚胎率、生化妊娠率和临床妊娠率之间无统计学（P>0.05，表3）。

表3 两组患者助孕情况比较

组别	周期(个)	正常受精率(%)	卵裂率(%)	优质胚胎率(%)	移植胚胎数(个)	临床妊娠率(%)
观察组	77	69.22±15.81	97.13±5.65	89.2±24.62	2.67±0.45	48(37/77)
对照组	3295	77.96±17.80	91.66±8.92	73±24.25	2.10±0.50	55(1812/3295)
t/χ^2值	-	0.854	4.298	1.016	7.748	0.667
P值	-	0.394	<0.001	0.311	<0.001	0.414

2.4 同一患者短时受精联合补救ICSI移植周期未妊娠与该患者重复周期直接ICSI数据分析

整理所有77例短时IVF受精失败联合早期补救ICSI助孕失败的病历，其中后续有直接ICSI重复周期的病历17个，对比其第1周期及重复周期的临床数据：2PN率明显提高（69%/73.2%）；优质胚胎率提高（89.2%/67.7%）；17位重复周期直接ICSI的患者中有3例获得了临床妊娠。

3 讨论

在IVF过程中，平均受精率超过70%，但由于受很多因素的影响，任何一个环节的失误都有可能导致受精失败[7]。国外报道IVF周期中受精完全失败或受精率＜20%的发生率约为10%~20%[8]，国内报道3%~5%[9]。造成受精失败的原因可能包括：男性方面，精子功能低下，精子与卵子透明带结合和穿透能力低下或完全障碍是受精失败的主要因素[10]；女性方面则是由于卵母细胞透明带表面以及细胞质膜表面缺乏精子受体造成精卵结合障碍导致不能受精[10]。

在常规IVF受精失败后，是否转行ICSI治疗一直存在争议，李晓虹等[11]研究表明，IVF失败后行补救性

（下转封三页）

（上接1220页）

ICSI，妊娠率仅为7.75%（11/142），且仅有4例成功分娩。以往补救性ICSI一般在IVF加精后18~22 h，此时卵细胞已老化，对受精和胚胎发育产生影响。若将实施补救ICSI的时间提早到卵细胞老化之前，就可能提高胚胎发育潜能和临床结局[12]。本研究在77个受精失败周期联合早期补救ICSI的时间均控制在6 h内，发现IVF失败后转行ICSI，受精率（69%）略低于同期因男方因素直接ICSI患者的受精率（77%），卵裂率和优质胚胎数与同期直接ICSI患者略高，与前人的研究结果相似[13-14]，但是临床妊娠率却低于常规ICSI的患者。故本研究认为IVF受精失败后直接转行ICSI补救可以降低周期取消率但是对于妊娠结局的改善还需更大样本量数据进行分析。目前认为再次ICSI后低的妊娠率与卵子老化，胚胎与子宫内膜不同步有关[4]。本研究中对第1周期短时受精失败联合早期补救ICSI周期未妊娠的患者与该患者后续知己ICSI周期的相关数据进行分析，受精率及卵裂率和优质胚胎率较直接ICSI周期没有明显差别甚至略高，但是17例重复周期患者中仅有3例获得了临床妊娠，临床妊娠率（17.6%），远低于本中心直接因男性因素而行ICSI助孕的患者临床妊娠率55%。因此，针对于短时IVF受精失败的这部分患者的妊娠结局是否还受其他相关因素影响有待于我们在以后的工作中继续观察及分析。

参考文献：

［1］ Emery BR, Rienzi LF, Ubaldi FM, et al. Intracytoplasmic sperm injection after total conventional *in-vitro* fertilization failure［J］. Fertil Steril, 2005, 85(4): 901-6.

［2］ Zhang XD, Liu JX, Liu WW, et al. Time of insemination culture and outcomes of *in vitro* fertilization: a systematic review and meta-nanlysis［J］. Hum Reprod Update, 2013, 19(6): 685-95.

［3］ Miller KF, Falcone T, Goldberg JM, et al. Previous fertilization failure with conventional *in vitro* fertilization is associated with poor outcome of intracytoplasmic sperm injection［J］. Fertil Steril, 1998, 69(2): 242-5.

［4］ Benadiva CA, Nulsen J, Siano L, et al. Intracytoplasmic sperm injection overcomes previous fertilization failure with conventional *in vitro* fertilization［J］. Fertil Steril, 1999, 72(6): 1041-4.

［5］ World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction［M］. 4th ed. Cambridge: cambridge university press, 1999: 10-20.

［6］ Palermo G, Joris H, Devroey P, et al. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte［J］. Lancet, 1992, 340(8810): 17-8.

［7］ 戴晓怡. 卵细胞胞浆内单精子注射妊娠后胎儿畸形一例［J］. 中国优生与遗传杂志, 2004, 12(3): 117.

［8］ Kuczyński W, Dhont M, Grygoruk C, et al. Rescue ICSI of unfertilized oocytes after IVF［J］. Hum Reprod, 2002, 17(9): 2423-7.

［9］ 张凤英, 张美姿, 张云山, 等. 常规IVF授精后20~22 h ICSI再授精的预后［J］. 第四军医大学学报, 2005, 26(7): 667-9.

［10］ Swain JE, Pool TB. ART failure: oocyte contributions to unsuccessful fertilization［J］. Hum Reprod Update, 2008, 14(5): 431-46.

［11］ 李晓虹, 于丛一, 麦美琪, 等. 常规IVF不受精周期行补救卵母细胞单精子注射［J］. 中山大学学报: 医学科学版, 2007, 28(2): 188-91.

［12］ 戴蜜蜜, 葛红山, 黄朝霞, 等. 常规IVF受精失败后行补救ICSI与直接ICSI的临床比较分析［J］. 实用医学杂志, 2011, 27(6): 984-6.

［13］ 孙 丽, 刘 萍, 全 松. 常规IVF受精失败后转ICSI与直接ICSI的临床结局比较［J］. 南方医科大学学报, 2009, 29(5): 993-5.

［14］ 徐艳文, 周灿权, 方 丛, 等. 卵细胞胞质内单精子注射在前次常规体外受精失败病例中的应用［J］. 中华男科学杂志, 2006, 12(6): 531-3.

（编辑：孙昌朋）

（上接1214页）

［15］ Olie RA, Simões-Wüst AP, Baumann B, et al. A novel antisense oligonucleotide targeting survivin expression induces apoptosis and sensitizes lung cancer cells to chemotherapy［J］. Cancer Res, 2000, 60(11): 2805-9.

［16］ Groner B, Weiss A. Targeting survivin in cancer: novel drug development approaches［J］. BioDrugs, 2014, 28(1): 27-39.

［17］ Tanioka M, Nokihara H, Yamamoto N, et al. Phase I study of LY2181308, an antisense oligonucleotide against survivin, in patients with advanced solid tumors［J］. Cancer Chemother Pharmacol, 2011, 68(2): 505-11.

（编辑：经 媛）